Medizinische Klinik und Poliklinik E
der Universität Düsseldorf
(Direktor: Prof. Dr. H. Zimmermann)

KLINISCH-PHARMAKOLOGISCHE UNTERSUCHUNG ZUR PHARMAKOKINETIK UNTERSCHIEDLICHER INSULINKONZENTRATIONEN

DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
Der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

vorgelegt von

WILFRIED HEINEN
und
RALF HEYNE

1983

UNIV.
LEIDEN
NED.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543905_0097

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

Der Dekan
der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

gez. Prof. Dr. A. Hopf

Referent

gez. Priv.-Doz. H. J. Cüppers

Korreferent

gez. Prof. Dr. Dr. E. Keck

MEDIZINISCHE KLINIK UND POLIKLINIK E
DER UNIVERSITÄT DÜSSELDORF

(Direktor: Prof. Dr. H. Zimmermann)

KLINISCH-PHARMAKOLOGISCHE UNTERSUCHUNG ZUR PHARMAKOKINETIK UNTERSCHIEDLICHER INSULINKONZENTRATIONEN

D I S S E R T A T I O N

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
Der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

vorgelegt von

WILFRIED HEINEN

und

RALF HEYNE

1983

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

		Seite
I.	Einleitung	3
II.	Zielsetzung	7
III.	Methoden und Experimente	9
	1. Analytische Methoden	11
	2. Statistische und pharmakokinetische Berechnungen	11
IV.	Ergebnisse	15
V.	Diskussion	26
VI.	Zusammenfassung	35
VII.	Literaturverzeichnis	36
VIII.	Danksagung	48
IX.	Lebensläufe	49

I. EINLEITUNG

Seitdem in den letzten Jahren der kausale Zusammenhang zwischen Diabeteseinstellung und diabetogenen Spätfolgen wiederholt nachgewiesen worden ist, wurde es zum obersten Ziel in der Diabetestherapie, konstant normoglykämische Blutzuckerspiegel zu erzielen.

Voraussetzung dafür ist die Aufrechterhaltung möglichst optimaler Insulinkonzentrationen am Wirkungsort. Die notwendigen Insulindosen werden auch heute - im Zeitalter der Insulinpumpensysteme - ins subcutane Fettgewebe injiziert. Alexander Wood hatte schon 1853 diese Applikationsform zur Behandlung einer Trigeminusneuralgie mit Morphin verwendet. Seitdem hat sich die subcutane Injektion zu der gängigsten parenteralen Applikationsform von Pharmaka entwickelt. Zum einen ist dies in der leichten Erlernbarkeit dieser Injektionstechnik begründet, die sich gerade im Hinblick auf die Selbstapplikation von Insulin für Diabetiker als segensreich erwiesen hat, zum anderen verfügt die subcutane Injektion von z.B. Insulin gegenüber der intravenösen, instramuskulären oder auch intraperitonealen Applikation über eine prolongiertere Wirkung (Guerra, 1976; Katsilambros, 1979; Schade, 1981; Ferrero, 1981).

Will man diesen Effekt nutzen, sollten Einflüsse, die die Insulinkonzentration am Zielort unkontrolliert verändern, möglichst gering gehalten werden und alle Faktoren, die das subcutan injizierte Insulin auf seinen Weg beeinflussen, genau bekannt sein.

Eine unterschiedliche Wirkung subcutan injizierter Pharmaka ergibt sich bereits durch die verwendete Injektionstechnik. So zeigte Barke bereits 1943 eine verminderte Absorption subcutan injizierter Glukoselösung bei steigendem Injektionsdruck.

Unterschiede ergaben sich hinsichtlich Wirkungseintritt und -dauer auch zwischen konventioneller Injektion und Applikation durch eine Spritzpistole bei Versuchen, die Worth (1980) mit subcutanem Insulin vornahm.

Aufgrund von Diffusionskräften muß das Pharmaka vorbei an Fett- und Bindegewebszellen die interzelluläre bindegewebige Grundsubstanz passieren und ist dabei wesentlich von dessen Zustandsform abhängig. So steigert die Gabe von Hyaluronidase die Permeabilität der Grundsubstanz durch Spaltung der Hyaluronsäure. Sie ermöglicht dem subcutan gegebenen Pharmaka, eine größere Zahl von Kapillaren pro Zeiteinheit zu erreichen (Sekijuma, 1952; Baeder, 1955).

Auch eine Dehydratation zum Beispiel nach Dursten kann, unter der Vorstellung einer kürzeren Diffusionsstrecke, zu einer höheren Absorptionsgeschwindigkeit führen (Hvidberg, 1959).

Zudem hängt die Diffusionsstrecke wesentlich von der Kapillarversorgung ab, die keineswegs für das gesamte subcutane Fettgewebe eine einheitliche Größe darstellt. Ryan (1973) wies je nach Lokalisation eine Kapillaranzahl von 29 bis 150 Kapillarschlingen/mm^2 nach. Die daraus resultierenden Oberflächen- und Diffusionsstreckenveränderungen lassen erwarten, daß sich die Absorptionskinetik durch die Wahl des Injektionsortes beeinflussen läßt.

Cüppers zeigte dies nach Koivisto (1980) erstmals 1980 mit einer direkten Meßmethode. Im Vergleich erreichte er bei Injektion von Insulin in die subcutane

Abdominalregion eine signifikant größere Insulinabsorptionsrate als nach subcutaner Injektion in den Oberschenkel. Die Werte für die Absorption am Arm lagen dazwischen. Auch die signifikant langsamere Absorption aus dem Subcutangewebe von Fettsüchtigen wird mit dem geringen Kapillarangebot pro Volumen und damit reduzierten Blutfluß erklärt (Ries & Schuster, 1961).

Die eigentliche Stoffaufnahme in Kapillaren durch deren Membranen hindurch, wird im ersten Fick'schen Gesetz beschrieben, welches eine Abhängigkeit der Diffusion von der Diffusionsstrecke, der Diffusionsfläche, dem Konzentrationsunterschied vor und hinter der zu durchdringenden Membran, sowie dem Diffusionskoeffizienten zeigt. Der Koeffizient hängt unter anderem von Molekulargewicht und -größe des diffundierenden Stoffes ab. Gerade für schlecht fettlösliche Substanzen, wie zum Beispiel Insulinmoleküle, ist die Molekulargröße für die transmembrane Bewegung von entscheidender Bedeutung (Kuemmerle, 1973).

Eine Erklärungsmöglichkeit für diese Abhängigkeit liegt in den von Pappenheimer (1953) erstmals beschriebenen Membranporen und deren auf 30 - 40 Å beschränkten Radius. Diese Porengröße ist jedoch veränderlich. Eine Einflußmöglichkeit ergibt sich zum Beispiel durch Gabe von Hystamin. Entgegen dem durch die Vergrößerung der Poren zu erwartenden Effekt kommt es jedoch zu einer verringerten Absorption, wie es bei Versuchen mit Sulphacetamid an Ratten und Kaninchen von Schou (1958) beschrieben worden ist. Diese Tatsache wird auf ein Überwiegen des Flüssigkeitsausstroms aus den Gefäßen zurückgeführt. Auch eine Histaminfreisetzung durch

UV-Licht oder Medikamente, wie z.B. Morphine, bedingen denselben Effekt (Milthers, 1958).

Altersunterschiedliche Absorptionsgeschwindigkeiten beim Menschen ergaben Versuche von Ries (1965) mit Jod ^{131} und Ferrero (1981) mit Insulin, wobei mit zunehmendem Alter eine Absorptionsverzögerung eintrat. Diese kann mit einer verminderten Permeabilität der Kapillarwände im Alter erklärt werden. Auch ein verminderter kapillärer Blutfluß ist ursächlich denkbar. Dieser korreliert nach Kolendorf (1979) mit der Insulinabsorption. Nach Aschoff (1958) resultiert zum Zwecke des Wärmeaustausches nach Körpererwärmung eine verstärkte Kapillardurchblutung. So ist es verständlich, daß eine lokale oder generalisierte Erwärmung der Haut oder eine verstärkte körperliche Arbeit über eine Kapillarflußverstärkung die Absorption subcutan injizierter Pharmaka beschleunigen bzw. verstärken.

Diesen Effekt hat Cüppers (1980) für die Erhöhung der Umgebungstemperatur nachgewiesen.

Durch McInally (1952) ließ sich ebenfalls eine Absorptionserhöhung von Na^{24} nach lokaler Erwärmung durch ein Heizkissen zeigen.

Nach Koivisto & Felig (1978) verursachte Beinarbeit eine erhöhte J^{125}-Insulin-Absorption bei subcutaner Injektion in den Oberschenkel.

In diesem Zusammenhang sind gefäßkonstriktorisch wirkende Medikamente, z.B. Adrenalin, zu erwähnen, die durch eine Verminderung des kapillären Blutflusses zu einer verzögerten Absorption aus dem subcutanen Gewebe führen. Allgemein bekannt ist die Ausnützung

dieses Effektes bei der Verwendung von Lokalanaesthetika mit Adrenalinzusatz.

Der Abbau von Insulin in weniger oder nicht wirksame Spaltprodukte vollzieht sich nicht erst an Erfolgsorganen; schon durch die Aufnahme von Insulin in die den Injektionsort umgebenden Fettzellen wird ein nicht unwesentlicher Teil enzymatisch gespalten (Berger, 1979). Dabei zeigt sich nach Arbeiten von Challoner (1971), Hammond (1975), Goldstein und Livingston (1979), daß der Insulinabbau im geringen Maße auch durch die Zellmembran geschieht, jedoch überwiegend im Zellplasma unter Mitwirkung der Membranen stattfindet. Die entstehenden Spaltprodukte werden an das umgebende Medium abgegeben, was eine baldige Erschöpfung dieser Abbaureaktionen nicht erwarten läßt.

II. Z I E L S E T Z U N G

Schon früher hat es im Zusammenhang mit der subcutanen Applikation von Insulin Studien gegeben, die die Absorptionskinetik in Abhängigkeit vom benutzten Injektionsvolumen aufzeigten (Binder, 1969; Dobsen, 1967 usw.). Trotzdem fehlte bis heute eine Untersuchung der häufig benutzten, aus der Vielzahl der auf dem Markt befindlichen, Insulinkonzentrationen unter Verwendung der heute üblichen "direkten", radioimmunologischen Bestimmung des Seruminsulins. Dies erscheint uns umso wichtiger, als man in einigen Ländern (USA, Australien) bereits von den lange benutzten Insulinkonzentrationen U 40, U 80 auf die dem Dezimalsystem zugehörigen Konzentrationen U 100, U 200 übergegangen ist, ohne daß seitdem eine vergleichende Untersuchung der Absorptionskinetik stattgefunden hat. Es war das Ziel dieser Umstellung, die Möglichkeit der bei der Vielzahl

UNIV. LEIPZIG MBL

von Insulinkonzentrationen und unterschiedlichen Spritzeneinteilungen zwangsläufig unvermeidlichen Dosierfehler zu reduzieren (Arky, 1973; Sheldon, 1976; Maffitt, 1980).

Ein großer Fortschritt bei der Bemühung, diabetische Folgeerkrankungen zu vermeiden, ist durch eine bessere Blutzuckereinstellung mit Insulinpumpen erreicht worden. Die erste Generation dieser Pumpen hatte noch eine konstante Injektionsgeschwindigkeit. Daher mußte die für den täglichen Bedarf benötigte Insulinkonzentration durch Zusetzen von Kochsalzlösung zu vorgefertigten Präparationen hergestellt werden (Sonnenberg, 1981). Bei den neuen Pumpen ist die individuelle Anfertigung der Insulinkonzentration nicht mehr nötig, da die Injektionsgeschwindigkeit variiert werden kann.

Unter den vielen, seitdem verwendbaren fertigen Insulinkonzentrationen, fällt die Wahl auf höherkonzentrierte, da sich durch deren Verwendung die Pumpenausmaße reduzieren lassen und die Nachfüllintervalle länger werden (Irsigler, 1978).
Unter diesen Prämissen ist der Einsatz immer höher konzentrierter Insuline zu erwarten.

Die Entscheidung für eine Insulinkonzentration setzt jedoch auch das exakte Wissen um deren Absorptionskinetik voraus.

Wir haben daher die Pharmakinetik subcutan injizierter Insulinkonzentrationen in unserer Studie untersucht mit dem Ziel, bei konstant gehaltener Insulindosis Rückschlüsse auf den Einfluß des verwendeten Injektionsvolumens auf die Absorption zu erhalten.

III. METHODEN UND EXPERIMENTE

An der vorliegenden Untersuchung haben sieben männliche und normalgewichtige Versuchspersonen im Alter zwischen 20 und 30 Jahren teilgenommen. Bei keinem von ihnen lag zum Zeitpunkt der Versuche anamnestisch eine akute oder chronische Erkrankung vor. Sie hatten bisher weder Insulin erhalten, noch standen sie unter einer anderen medikamentösen Therapie.

Die Probanden traten die Versuche an fünf Tagen jeweils morgens gegen 8.30 Uhr nach mindestens 12-stündiger Nahrungskarenz an. Sie ruhten während der gesamten Untersuchungszeit in liegender Position bei konstanter Raumtemperatur. Ihnen wurde in der Cubitalvene ein Teflonkatheter gelegt, der ständig mit geringen Mengen physiologischer Kochsalzlösung offengehalten wurde.

Fünfzehn Minuten vor der Applikation des Insulins wurde die erste Probe entnommen.

Zum Zeitpunkt Null erhielten die Probanden 10 I.E. Altinsulin subcutan an die gleiche Stelle des Oberschenkels injiziert. Dabei wurde auf stets gleiche Technik, besonders im Hinblick auf Injektionswinkel, -druck und -tiefe geachtet und Einmalspritzen sowie -kanülen derselben Herstellerfirma verwendet. Die Versuchspersonen erhielten in randomisierter Reihenfolge jeweils eine der fünf nachstehend aufgeführten Insulinkonzentrationen (siehe Tabelle 1). Dabei diente als Basis das hochgereinigte Altinsulin Actrapid^{R} MC (Monocomponent) der Firma Novo (Dänemark).

Neben den fertig vorliegenden Insulinen stellten wir zwei Konzentrationen durch Zusatz physiologischer Kochsalzlösung unmittelbar vor Versuchsbeginn selber her. Sowohl Insuline als auch Kochsalzlösung wurden bei 4^{o} Celsius gelagert.

Nach Versuchen von Pingel (1972) ist bei dieser Temperatur eine Abnahme der Biologischen Aktivität über den Versuchszeitraum auszuschließen.

Tabelle 1: Benutzte Insuline

Insulin	Konzentrationen	Appliziertes Volumen	Applizierte I.E.
Actrapid^{R} U 200	200 I.E./ml	0.05 ml	10
Actrapid^{R} U 80	80 I.E./ml	0.125 ml	10
Actrapid^{R} U 40	40 I.E./ml	0.25 ml	10
Actrapid^{R} U 10	10 I.E./ml	1.00 ml	10
Actrapid^{R} U 5	5 I.E./ml	2.00 ml	10

Proben wurden den Versuchspersonen aus dem Teflonkatheter 15 Minuten vor, während der Applikation und 10, 20, 30, 40, 50, 60, 75, 90, 105, 120, 135, 150 und 180 Minuten danach entnommen.

Es wurde aus den Proben jeweils Glucose, Insulin und C-Peptid bestimmt. Zu bestimmten Abnahmezeiten erfolgte auch die Analyse von Laktat und Ketonkörpern. Die Serumglukosekonzentration wurde zum rechtzeitigen Erkennen einer Hypoglykämie - aus Sicherheitsgründen - simultan zur Blutabnahme gemessen.

Um Hypoglykämien nach Versuchsende zu verhindern, erhielten alle Probanden abschließend eine kohlenhydratreiche Mahlzeit.

III.1. Analytische Methoden

Die Bestimmung von Glukose, Laktat und Ketonkörpern erfolgte mit Routine-Labormethoden nach: Glukose (Grady & Lamar, 1959), Laktat (Hohorst, 1970) und Ketonkörpern als Summe aus ß-Hydroxybutyrat (Williamson, 1970) und Acetoacetat (Mellanby, 1970).

Für die Sofortmessung der Glukosekonzentration fand ein Analyzer der Firma Beckman Anwendung.

Die Serumkonzentrationen an Insulin und C-Peptid wurden durch spezifische Radioimmunoassays nach Wilde & Porath (1966) für Insulin (IRI) und nach Kaneko (1974) für C-Peptid bestimmt.

Die Seruminsulinkonzentration diente uns dabei als Maß für die Absorption von Insulin aus dem subcutanen Injektionsdepot.

III.2. Statistische und pharmakokinetische Berechnungen

Bei der Bearbeitung der von uns erzielten Versuchsergebnisse wurden folgende statistische Berechnungen verwendet:

A) Mittelwert:

$$\bar{x} = \frac{x_i}{n} \quad ; \quad n = \text{Anzahl der Messungen}$$

B) Standardabweichung (SD):

$$s_x = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

C) Mittlerer Fehler des Mittelwertes (SEM):

$$s_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{s_x^2}{n}}$$

D) Der Unterschied zwischen den Mittelwerten wurde von uns mit Hilfe des t - Testes für gepaarte Stichproben nach Student auf Signifikanz untersucht:

$$t_{n-1} = \frac{\bar{d}}{\frac{s_d}{\sqrt{n}}}$$

wobei $\bar{d}$ dem Mittelwert der Differenzen oder der Differenz der Mittelwerte entspricht. s_d ist die Standardabweichung der Differenzen. $p < 0.05$ wurde entsprechend einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 % als signifikant angenommen.

E) Berechnung von $Conc_{max}$ und $T_{conc.max}$:

Die maximale Hormonkonzentration -$IRIconc_{max}$ in uU/ml- wurde aus den höchsten Seruminsulinkonzentrationen der einzelnen Probanden errech-

net. Als T_{max} in Minuten der jeweiligen Untersuchungsgruppe wurde der Zeitpunkt bezeichnet, bei dem die maximale Insulinkonzentration erreicht wurde.

F) Berechnung der Fläche unter der Insulin-Konzentrations-Zeitkurve:

Die Fläche unter der Insulinkurve (AUC = Area under the curve) wurde berechnet unter Auflösung des Flächenintegrals nach der Trapezoidregel (Klotz 1979) und Aufsummation der trapezförmigen Segmente nach:

$$Cdt = AUC = \frac{1}{2} (y_{n-1} + y_n) \quad (x_n - x_{n-1})$$

mit y = Konzentration am jeweiligen Meßpunkt
und x = Zeit am jeweiligen Meßpunkt

G) Berechnung der prozentualen Bioverfügbarkeit (BV) von Insulin:

Die prozentuale Bioverfügbarkeit (BV) des subcutan injizierten Insulins wurde für den Zeitraum 0 - 90 Minuten nach Ritschel (1973) aus den Flächen der Insulin-Konzentrationskurven berechnet:

$$BV\ \% = \frac{AUC_x}{AUC_s} \cdot 100$$

AUC_s = Standardfläche der Kontrollgruppe (hier: Insulinkonzentration Actrapid^R U 40), die mit 100 % angenommen wurde.

AUC_x = jeweilige Vergleichsfläche.

H) Berechnung von $Conc_{min}$ und $T_{conc.min}$:

Die minimale Serumglukosekonzentration - $GlukoseConc_{min}$ in mg/dl - wurde aus den niedrigsten Serumglukosekonzentrationen der einzelnen Probanden errechnet.
Als T_{min} in Minuten der jeweiligen Untersuchungsgruppe wurde der Zeitpunkt bezeichnet, bei dem die minimale Glukosekonzentration erreicht wurde.

IV. E R G E B N I S S E

Entsprechend einer Studie von Foster (1978) lagen die Ausgangswerte der von uns gemessenen Parameter im Normbereich für männliche und gesunde Versuchspersonen im Alter zwischen 21 und 40 Jahren, die über Nacht gefastet haben.

IV.1. Insulin

Die ermittelten Insulinwerte, die sich nach Injektion der von uns verwendeten Insulinkonzentrationen ergaben, sind in der nachfolgenden Abbildung 1 im Vergleich zur Konzentration U 40 graphisch dargestellt.

Ausgehend von einer Konzentration von 5.71 $\pm$ 0.29 uU/ml steigt die Seruminsulinkonzentration nach Injektion von 10 I.E. U 40 auf einen maximalen Wert (IRI-$Conc_{max}$) von 16.79 $\pm$ 1.77 uU/ml. Dieser Wert wird nach 96.43 $\pm$ 12.18 Min. erreicht (IRI-T_{max}).

Die AUC (area under the curve) - im weiteren jeweils für den Zeitraum zwischen 0 - 90 Minuten berechnet - betrug 1049.64 $\pm$ 121.17 uU/ml·Min. Diesen Wert setzten wir als 100-prozentige Bioverfügbarkeit (BV) an.

Im Vergleich mit der Konzentration U 5 ergab sich nach Applikation des größeren Volumens bereits nach der 10. Minute eine signifikant höhere ($p<0.05$) Insulinkonzentration, die bis zum Versuchsende bei 180 Min. nachgewiesen werden konnte. Daraus ergab sich ebenfalls eine signifikant gesteigerte ($p<0.01$) IRI-$Conc_{max}$ mit 24.00 $\pm$ 2.5 uU/ml.

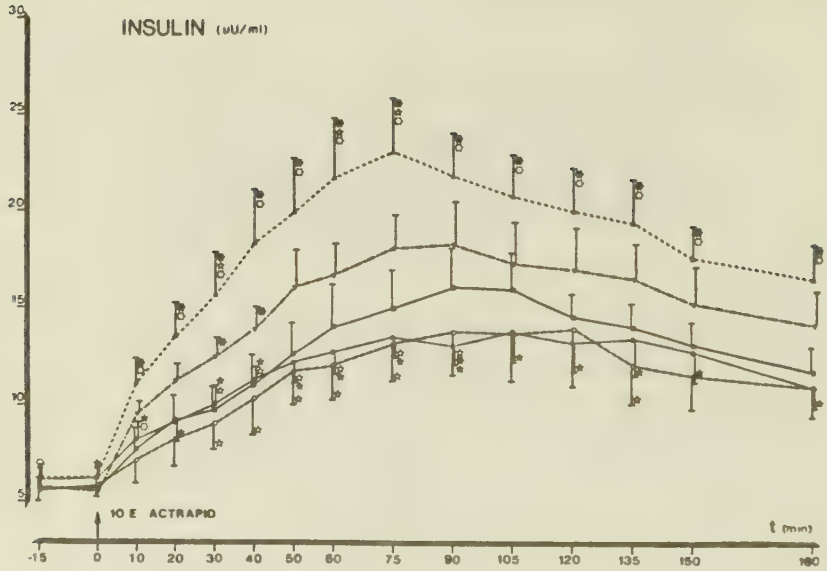

Abb. 1: Seruminsulinkonzentration in uU/ml
als Mittelwerte ± SEM

Es bedeuten:

☼ signifikant gegen U 80; U 200 ●·····

✱ signifikant gegen U 40; U 80 ○— — —

☼ signifikant gegen U 10; U 40 ■———

✱ signifikant gegen U 5; U 10 ▽— — —

signifikant bei $p < 0.05$; U 5 ▲- - -

Diese maximale Seruminsulinkonzentration wurde schon nach 76.43 ± 8.78 Min. und damit signifikant ($p < 0.05$) früher erreicht.

Bei der Berechnung der Fläche unter der Insulinkonzentrations-Zeitkurve (AUC) erhielten wir einen gegen U 40 signifikanten Wert ($p < 0.005$) von 1590.96 ± 179 uU/ml·Min. Dies entspricht einer ebenfalls signifikant unterschiedlichen Bioverfügbarkeit (BV) von 152 %.

Tabelle 2: Maximale Seruminsulinkonzentrationen ($IRI\text{-}Conc_{max}$), Zeitpunkt der maximalen Seruminsulinkonzentrationen ($IRI\text{-}T_{max}$), Flächen unter den Seruminsulinkonzentrations-Zeitkurven (AUC), Mittelwerte ± SEM

Insulin	$IRI\text{-}Conc_{max}$ (uU/ml)	$IRI\text{-}T_{max}$ (Min.)	$AUC_{(0\text{-}90\ Min.)}$ (uU/ml·Min.)
U 200	15.36 ± 1.53 ✱☼	86.43 ± 11.27	997.14 ± 62 ✱☼
U 80	14.86 ± 2.59 ✱	92.86 ± 9.50	940.71 ± 127 ✱
U 40	16.79 ± 1.77	96.43 ± 12.18	1049.64 ± 121
U 10	20.00 ± 1.92	77.86 ± 10.74 ✱	1268.14 ± 91 ☼
U 5	24.00 ± 2.50 ✱	76.43 ± 8.78 ✱	1590.96 ± 179 ✱☼

Es bedeuten:
☼ signifikant gegen U 80;
✱ signifikant gegen U 40;
☼ signifikant gegen U 10;
✱ signifikant gegen U 5;
signifikant bei $p < 0.05$.

Unter Verwendung von U 10 traten bei den Serum-insulinkonzentrationen zu den Zeitpunkten 30 und 40 Minuten nach Injektion signifikant ($p < 0.025$ bzw. $p < 0.05$) höhere Werte im Vergleich zu U 40 auf. Signifikant niedrigere Werte zeigten sich gegenüber U 5 bei 30, 60 und 75 Minuten. Der Zeitpunkt der höchsten Insulinkonzentration (IRI-T_{max}) liegt mit 77.86 $\pm$ 10.74 Min. signifikant früher ($p < 0.025$) als bei der Konzentration U 40, jedoch später als beim Injektionsvolumen der Konzentration U 5. Die maximale Insulinkonzentration lag mit 20.00 $\pm$ 1.92 uU/ml zwischen den Werten für die Konzentration U 40 und U 5.

In bezug auf die AUC zeigte sich mit 1268.78 $\pm$ 91 uU/ml·Min. entsprechend einer BV von 121 % ein signifikant niedriger Wert als beim 2-ml-Volumen von U 5.

Bei Anwendung von 10 I.E. U 80 ergaben sich über den Versuchszeitraum keine signifikanten Differenzen zur Konzentration U 40. Demgegenüber traten zahlreiche signifikante Unterschiede zu den Injektionsvolumina 1 ml und 2 ml auf, wie der Abbildung 1 zu entnehmen ist. Für IRI-T_{max} ergab sich die Zeit von 92.86 $\pm$ 9.50 Min. IRI-$Conc_{max}$ wurde mit 14.86 $\pm$ 2.59 uU/ml signifikant niedriger als beim 2-ml-Volumen gemessen.

Signifikante Unterschiede hinsichtlich der mit 940.71 $\pm$ 127 uU/ml·Min. ermittelten AUC ergaben sich sowohl zur Konzentration U 10 als zu U 5. Die Bioverfügbarkeit lag bei 90 %.

Neunzig Minuten nach Applikation von 10 I.E. eines U 200 Insulins kam es zu im Vergleich zur Konzentration U 40 einem signifikant niedrigen Wert. Über

große Zeiträume zeigten sich deutlich niedrige Insulinwerte gegenüber den Konzentrationen U 10 und U 5. Die entsprechenden Signifikanzen sind aus der Abbildung 1 zu entnehmen. Auch die Werte für IRI-$Conc_{max}$ (= 15.36 ± 1.53 uU/ml und AUC (= 997.14 ± 62 uU/ml·Min.) zeigen signifikante Differenzen zu den eben genannten Konzentrationen. Dem entspricht auch eine Bioverfügbarkeit von nur 95 %. Die IRI-T_{max} von 86.43 ± 11.27 Min. war nicht signifikant unterschiedlich.

IV.2. Glukose

Der aus der Injektion der von uns verwendeten Insulinkonzentrationen resultierende Blutzuckerabfall ist in der Abbildung 2 wiedergegeben.

Bei Verwendung der Insulinkonzentration U 40 ergibt sich ausgehend von einem Blutzuckerwert von 82.7 ± 1.6 mg/dl ein Abfall, der mit der minimalen Serumglukosekonzentration (Glukose-$Conc_{min}$) von 50.7 ± 3.2 mg/dl seinen Tiefpunkt erreicht. Der Zeitpunkt dieser minimalen Serumglukosekonzentration (Glukose-T_{min}) liegt bei 91.2 ± 15.0 Min.

Demgegenüber bewirkt die Insulinkonzentration U 5 ein signifikant stärkeres Absinken bis auf 42.6 ± 2.6 mg/dl (Glukose-$Conc_{min}$). Zudem wird dieser Wert bereits nach 84.3 ± 12.3 Min. (Glukose-T_{min}) und damit signifikant früher erreicht.
Weitere statistisch differente Glukosewerte ergaben sich bereits nach 30 Minuten und wurden auch nach 40, 50, 60, 75, 120, 150 und 180 Minuten ermittelt.

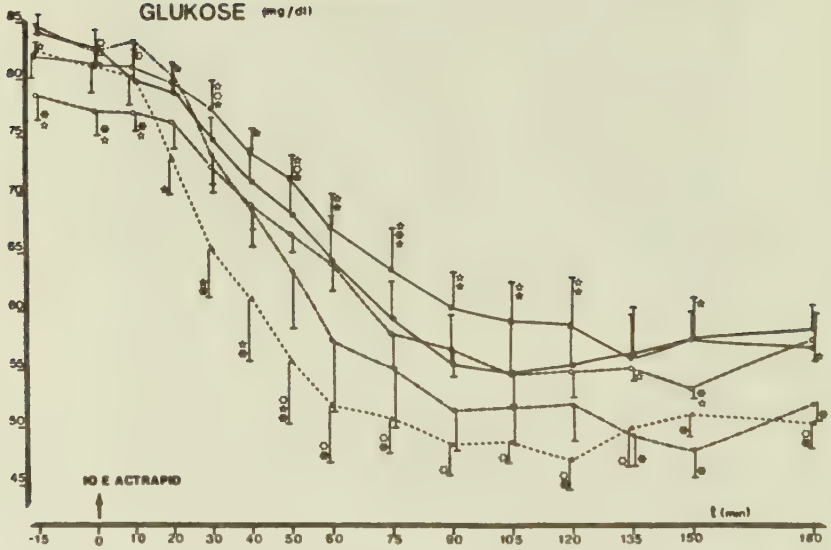

Abb. 2: Serumglukosekonzentration in mg/dl
als Mittelwerte ± SEM

Es bedeuten:

✡ signifikant gegen U 80;	U 200	●------
✱ signifikant gegen U 40;	U 80	o— — —
✡ signifikant gegen U 10;	U 40	■———
✱ signifikant gegen U 5;	U 10	▽—·—
signifikant bei $p<0.05$;	U 5	▲- - -

Die Blutzuckerkurve der Insulinkonzentration U 10 verläuft gegenüber der U-40-Kurve ebenfalls deutlich gesenkt, jedoch immer oberhalb der Kurve von U 5. Dies zeigt sich in signifikant niedrigeren Werten im Vergleich zu U 40 bei 135, 150, 180 Minuten und höheren zu U 5 zwischen 20 und 50 Minuten. Mit 42.4 ± 2.3 mg/dl lag auch die Glukose-$Conc_{min}$ signifikant unterhalb der von U 40.

Nach Applikation von 10 I.E. der Konzentration U 80 verlief der eintretende Blutzuckerabfall nur im Hinblick auf die Konzentration U 10 bzw. U 5 weniger stark. Daraus resultieren signifikante Unterschiede gegenüber U 10 zwischen 135 - 180 Minuten und gegenüber U 5 zwischen 50 - 135 und 180 Minuten. Signifikanzen hinsichtlich Glukose-$Conc_{min}$ und Glukose-T_{min} sind aus Tabelle 3 ersichtlich. Zur Konzentration U 40 ergab sich ein annähernd ähnlicher Kurvenverlauf.

Tabelle 3: Minimale Serumglukosekonzentration (Glukose-$Conc_{min}$), Zeitpunkt der minimalen Serumglukosekonzentration (Glukose-T_{min}), Mittelwerte ± SEM

Insulin	Glukose-$Conc_{min}$ (mg / dl)	Glukose-T_{min} (Min.)
U 200	52.9 ± 3.8 ✡	137.1 ± 13.9 ✱✡✸✡
U 80	50.0 ± 2.1 ✱	126.4 ± 10.8 ✱
U 40	50.7 ± 3.2	91.2 ± 15.1
U 10	42.4 ± 2.3 ✸✡	107.1 ± 15.0 ✡
U 5	42.6 ± 2.6 ✸	84.3 ± 12.3 ✸✡

Es bedeuten:
✡ signifikant gegen U 80;
✸ signifikant gegen U 40;
✡ signifikant gegen U 10;
✱ signifikant gegen U 5;
signifikant bei $p < 0.05$.

Das hochkonzentrierte Insulin U 200 wies in unseren Versuchen die geringste blutzuckersenkende Potenz auf. Dies zeigte sich zum einen im sehr späten und schwachen Blutzuckerabfall - so wurde die relativ hohe Glukose-$Conc_{min}$ von 52.9 $\pm$ 3.8 mg/dl erst nach 137.1 $\pm$ 13.9 Min. erreicht -, zum anderen in den über weite Strecken gegenüber allen anderen Insulinkonzentrationen signifikant höheren Blutzuckerwerten.

IV.3. C - Peptid

Der für die Suppression der endogenen Insulinproduktion bezeichnende Abfall des C-Peptids ist in Abbildung 3 wiedergegeben.

Analog dem Blutzucker ergeben sich für die Insulinkonzentration U 5 zwischen 40 und 135 Minuten signifikant niedrigere Werte als nach Anwendung von Insulin U 40.

Auch hier nimmt die aus der Verwendung des Insulins U 10 resultierende Kurve einen Verlauf zwischen denen der Konzentration U 40 und U 5 an. Dies äußert sich in signifikanten Differenzen zu U 40 bei 20, 50, 75, 90, 105 und 120 Minuten bzw. zu U 5 bei 40 und 75 Minuten.

Die von uns für die Konzentration U 80 und U 200 ermittelten C-Peptid-Werte differierten nur geringfügig zu denen der Insulinkonzentration U 40. Wohl aber ermittelten wir über einen großen Teil des Versuchszeitraumes - 40, 50, 75, 90, 105, 120 Minuten nach der Injektion - signifikante Abweichungen zur Konzentration U 5.

Zwischen U 80 bei 40, 50, 75, 90 sowie 105 Minuten und U 200 von 40 bis 120 Minuten ergaben sich ebenfalls signifikante Unterschiede.

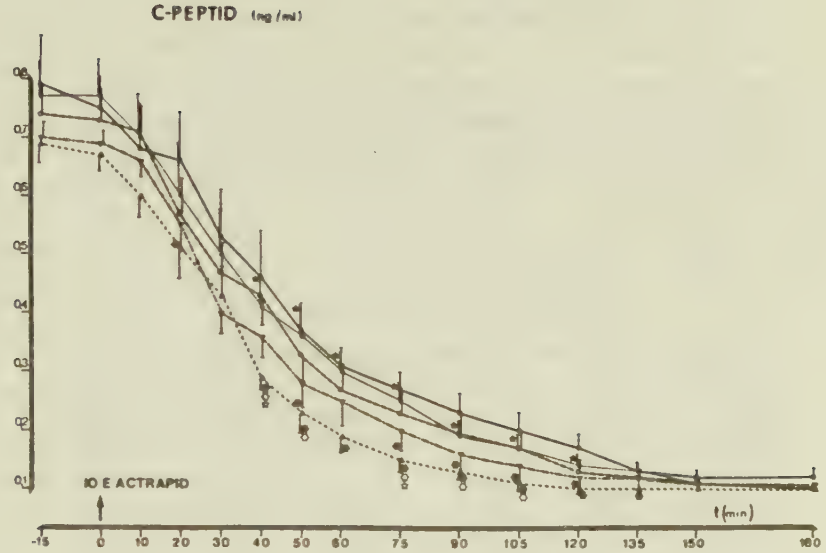

Abb. 3: Serum-C-Peptid-Konzentration
in ng/ml als Mittelwerte ± SEM

Es bedeuten:

☆ signifikant gegen U 80; U 200 ●·····

✱ signifikant gegen U 40; U 80 ○— — —

✲ signifikant gegen U 10; U 40 ■——

✱ signifikant gegen U 5; U 10 ▽—·—·

signifikant bei $p < 0.05$; U 5 ▲- - -

IV.4. Laktat / Ketonkörper

Die Tabellen 4 und 5 zeigen die für Laktat und Ketonkörper ermittelten Werte. Zwischen den Ergebnissen nach Anwendung der einzelnen Insulinkonzentrationen liegen keine richtungsweisenden Änderungen vor.

Tabelle 4: Lactat (mMol / l)

Angaben als Mittelwert ± SEM

Insulin:	U 200	U 80	U 40	U 10	U 5
Zeit (Min.)	$\bar{x}$ ± SEM (mMol/l)	$\bar{x}$ ± SEM (mMol/l)	$\bar{x}$ ± SEM (mMol/l)	$\bar{x}$ ± SEM (mMol/l)	$\bar{x}$ ± SEM (mMol/l)
0	1.60 ± 0.16	1.48 ± 0.16	1.55 ± 0.15	2.04 ± 0.37	1.65 ± 0.09
30	1.51 ± 0.16	1.33 ± 0.13	1.41 ± 0.10	1.47 ± 0.15	1.52 ± 0.06
60	1.73 ± 0.15	1.29 ± 0.14	1.52 ± 0.09	1.41 ± 0.11	1.79 ± 0.09
90	1.73 ± 0.11	1.40 ± 0.13	1.61 ± 0.12	1.47 ± 0.08	1.81 ± 0.13
120	1.82 ± 0.16	1.44 ± 0.17	1.66 ± 0.17	1.61 ± 0.09	1.81 ± 0.14
150	1.87 ± 0.15	1.64 ± 0.17	1.72 ± 0.16	1.66 ± 0.09	1.87 ± 0.11
180	1.95 ± 0.16	1.53 ± 0.12	1.75 ± 0.20	1.66 ± 0.11	1.99 ± 0.14

Tabelle 5: Ketonkörper (mMol / l)

Angaben als Mittelwert ± SEM

Insulin:	U 200	U 80	U 40	U 10	U 5
Zeit (Min.)	$\bar{x}$ ± SEM (mMol/l)	$\bar{x}$ ± SEM (mMol/l)	$\bar{x}$ ± SEM (mMol/l)	$\bar{x}$ ± SEM (mMol/l)	$\bar{x}$ ± SEM (mMol/l)
0	0.136 ± 0.017	0.198 ± 0.037	0.143 ± 0.067	0.191 ± 0.069	0.167 ± 0.033
30	0.139 ± 0.022	0.120 ± 0.021	0.172 ± 0.065	0.105 ± 0.028	0.139 ± 0.020
60	0.170 ± 0.037	0.144 ± 0.020	0.093 ± 0.029	0.064 ± 0.023	0.166 ± 0.036
90	0.122 ± 0.023	0.163 ± 0.025	0.113 ± 0.020	0.084 ± 0.022	0.125 ± 0.026
120	0.131 ± 0.019	0.146 ± 0.033	0.094 ± 0.014	0.087 ± 0.026	0.112 ± 0.023
150	0.139 ± 0.022	0.156 ± 0.025	0.146 ± 0.039	0.146 ± 0.042	0.168 ± 0.036
180	0.137 ± 0.029	0.203 ± 0.027	0.123 ± 0.028	0.137 ± 0.052	0.172 ± 0.031

V. D I S K U S S I O N

Unsere Versuche haben nachgewiesen, daß sich durch die Vergrößerung des Injektionsvolumens die Absorptionsrate und Bioverfügbarkeit einer konstanten Dosis von 10 I.E. subcutan injiziertem Alt-Insulin Actrapid (MC) entscheidend steigern läßt.

Der Zeitpunkt, zu dem die maximale Seruminsulinkonzentration erreicht wird, liegt bei Verwendung eines größeren Injektionsvolumens früher. Dies läßt auf eine ebenfalls gesteigerte Absorptionsgeschwindigkeit schließen.

Die erhöhte Bioverfügbarkeit fand ihren direkten Ausdruck in einem steileren Blutzuckerabfall, der zu zeitlich früher gelegenen und tieferen Blutzuckerminimalwerten führt.

Auch führen größere Injektionsvolumina zu einem schnelleren Sistieren der endogenen Insulinproduktion. Dies ist anhand schneller abnehmender C-Peptid-Spiegel erkennbar. Daher liegt in Verbindung mit der kurzen Insulinhalbwertzeit auch der Schluß nahe, daß die von uns gemessenen Insulinkonzentrationen ausschließlich exogener Herkunft sind.

Signifikante Unterschiede fanden sich besonders im Vergleich zu den Konzentrationen U 10 und U 5, während entsprechende Signifikanzen zwischen U 40, U 80 und U 200 viel seltener auffallen. Dieser Zusammenhang läßt sich zum einen auf die absolut gesehen geringen Volumenunterschiede zwischen diesen drei genannten Konzentrationen und zum anderen auf die erschwerte Dosier- und Applikationsgenauigkeit, die z.B. bei einem Injektionsvolumen von nur

0.05 ml (!) bei der Konzentration U 200 auftritt, zurückführen.

Beim Vergleich der C-Peptid- und Glukosekurven findet sich nach anfänglich parallelem Verlauf ein Wiederanstieg des Blutzuckers, während die C-Peptid-Werte noch auf einem niedrigen Niveau verbleiben. Entsprechende Beobachtungen machte schon Horwitz 1975. Nach Cüppers (1980) läßt sich der Blutzuckeranstieg auf den Einfluß kontrainsulinärer Hormone zurückführen, während die endogene Insulinproduktion durch den noch immer niedrigen Blutzucker inhibiert bleibt.

Unsere Ergebnisse sind folgendermaßen erklärbar: Eine höhere Konzentration der Insulinmoleküle, wie sie z.B. bei Actrapid^{R} MC U 200 im Injektionsdepot vorliegt, führt zu einer verstärkten Dimerisierung als auch Polymerisierung der Moleküle, woraus eine Zunahme des Umfanges als auch eine Erhöhung des Molekulargewichtes resultiert (Pocker, 1981).

Gerade aber Insulinmoleküle sind nach Schou (1961) aufgrund ihrer geringen lipophilen Eigenschaft bei der transmembranären Bewegung ins Kapillarlumen auf Membranporen angewiesen, die einen im Mittel auf 30 - 40 Å beschränkten Durchmesser aufweisen (Pappenheimer, 1953). Daher kann es bei hohen Insulinkonzentrationen zu einem Absorptionsstau vor der Kapillarmembran kommen. Die polymerisierten Insulinmoleküle gelangen erst dann in die Blutbahn, wenn sie aufgrund langsam eintretender Konzentrationserniedrigung dissozieren. Die für nicht polymerisierte Insulinmoleküle zu erwartende Diffusionsgeschwindigkeit wird deshalb nicht erreicht.

Das verwendete Injektionsvolumen beeinflußt nicht nur die Aggregationstendenzen der Insulinmoleküle, sondern erhöht auch den hydrostatischen Druck im subcutanen Fettgewebe des Injektionsbereiches. Nach Aschheim (1974) wird dieser Druck als auch die Durchströmung einer Gewebsregion durch das Verhältnis der offenen zu den verschlossenen Kapillaren bestimmt. Dieses Verhältnis wird nach Art eines Regelkreises durch den Tonus der praekapillären Sphinkteren beeinflußt. Diese Sphinktere verändern nämlich die Höhe des intrakapillären Wasserdruckes und damit die Relation zwischen transmuralem, hydrostatischem und osmotischem Druck. Damit wird verständlich, daß es zu einem Flüssigkeitsstrom von offenen zu verschlossenen Kapillaren kommt; denn verschlossene Kapillare sind aufgrund des reduzierten hydrostatischen Druckes in der Lage, Flüssigkeit und Substanzen aus dem Gewebe aufzunehmen. Ein laufender Wechsel zwischen Eröffnung und Verschluß spült die aufgenommenen Substanzen in den Kreislauf, bevor es zu einem Ausgleich der Konzentrationsgefälle kommt.

Auf dieser Basis erzeugt ein hoher hydrostatischer Druck im Gewebe zum einen einen verstärkten Flüssigkeitseinstrom in verschlossene Kapillare, zum anderen führt er über die Erhöhung des Sphinktertonus zu einer Zunahme der Zahl der verschlossenen Kapillaren und damit zu einer vergrößerten resorbierenden Oberfläche auch für Insulinmoleküle.

Auch Kolendorf (1979) bestätigte eine Korrelation zwischen Fettgewebsblutfluß und Insulinabsorption. Er führte die beim Ansteigen des Blutflusses gemessene Steigerung der Insulinabsorptionsrate auf ein

Anwachsen der rekrutierten Kapillarfläche und ein Abnehmen der Diffusionsstrecke zurück.

Anonymus (1980) führte die Depression der Insulinabsorption bei steigender Injektionskonzentration auf einen direkten vasokonstriktorischen Effekt des Insulins und damit einer Abnahme eben dieses Fettgewebsblutflusses zurück.

Der konsekutive Abfall des Gewebe-pH-Wertes in den sauren Bereich stellt zudem ein Optimum für die insulinabbauende Insulinase auf der Zellmembran dar (Hammond, 1975).

Lundgren vermutete 1966, daß ein nicht unwesentlicher Teil des Diffusionswiderstandes nicht an Membranen, sondern in der intercellulären Grundsubstanz selbst liegt. Diese könnte durch ihr dichtes Fibrillennetzwerk und in Gel-Phase befindlichen langkettigen Moleküle nicht unerhebliche Verteilungsstörungen bewirken. Ein die Diffusion erleichternder Einfluß des injizierten Volumens ist dabei zu erwarten.

In diesem Zusammenhang stellte Nelson (1976) fest, daß nur 50 % des injizierten Insulins die Blutbahn erreicht. Zum einen ist hier die von Robbinson (1972) beschriebene Anlagerung von Insulin an Fettzellenmembranen zu nennen, zum anderen auf die Aufnahme und den Abbau durch Fettgewebszellen hinzuweisen (Summer, 1969; Challoner, 1971; Berger, 1979).

Dies ist von Bedeutung für die Beobachtungen von Galloway (1973), so daß sich pro Steigerung der subcutan injizierten Insulindosis um 0.1 U/kg Körpergewicht eine Verlängerung der Wirkungsdauer um circa eine Stunde erzielen läßt.

Eine Abhängigkeit von der Konzentration des injizierten Insulins ist auch hier zu vermuten, der Nachweis bleibt jedoch späteren Studien vorbehalten.

Entgegen unseren Ergebnissen fand Binder (1969) bei der Untersuchung der Absorptionskinetik einer jeweils konstanten, subcutan injizierten Insulindosis eine Abnahme der absorbierten Insulinmenge bei steigendem Injektionsvolumen (0.01 ml, 0.1 ml, 1 ml).

Er benutzte dabei eine indirekte Meßmethode unter Verwendung von radioaktiv markiertem J^{125}-Insulin. Der über der Injektionsstelle mit einem Scanner gemessene Aktivitätsverlust wurde von Binder als proportional zur absorbierten Insulinmenge angenommen. Er mußte dabei von der Prämisse ausgehen, daß die Insulinmoleküle im subcutanen Fettgewebe völlig unversehrt bleiben, die Kupplung des Insulins mit radioaktivem Jod dessen Absorptionskinetik nicht verändert und die gemessene Radioaktivität intakten Insulinmolekülen entspricht.

Demgegenüber zeigte Berger (1979), daß ein erheblicher Teil des subcutan injizierten Insulins bereits an der Injektionsstelle degradiert wird. Dies steht im Einklang mit der von Chandler (1972) auch im Fettgewebe nachgewiesenen Existenz von Glutathion-Insulin-Transhydrogenase.

Daher ist anhand von über der Injektionsstelle gemessener Radioaktivität nicht zwischen intaktem Insulin und dessen Spaltprodukten zu unterscheiden.

Wie schon oben angeführt, besitzen Molekulargröße-

und -gewicht wesentlichen Einfluß auf die Absorptionskinetik. Es ist in diesem Zusammenhang nicht einzusehen, daß ein hinzugefügtes Jod-Atom die Konfiguration des Insulinmoleküls unbeeinflußt läßt.

Diese Annahme wird durch die Ergebnisse von Massaglia (1969) bestätigt, der eine Abnahme der Biologischen Wirksamkeit mit zunehmender Jodinaktion des Insulinmoleküls fand.

Andere Autoren, die wie Binder eine indirekte Meßmethode unter Verwendung von radioaktiv-markiertem Insulin zur Untersuchung der Volumenabhängigkeit der Insulinabsorptionskinetik benutzten, kamen zu recht unterschiedlichen Resultaten. Im Einklang mit Binder stehen die Ergebnisse, die Dobsen (1967) erzielte, als er bei verschiedenen, aber jeweils konstantgehaltenen Insulindosen eine signifikant schnellere Absorption bei Verwendung eines Injektionsvolumens von 0.5 ml gegenüber dem von 1 ml fand. Unterschiede hinsichtlich Alter, Geschlecht und Diabetestyp haben sich bei dieser Studie nicht herausgestellt.

Entgegen diesen Untersuchungen fand Joiner (1959) trotz Verwendung der gleichen Nachweismethode keinerlei signifikante Unterschiede im Vergleich von 0.2 ml, 0.6 ml und 1 ml Injektionsvolumen bei einer Insulindosis von je 8 I.E.

Völlig konträre Resultate ergaben sich bei den Versuchen von Moore (1959), indem das größere Injektionsvolumen von 0.45 ml gegenüber dem von 0.08 ml bzw. 0.09 ml eine beinahe auf das Doppelte gesteigerte Absorptionsgeschwindigkeit aufwies.

Auch für die intraperitoneale Applikationsweise von Insulin läßt sich eine Volumenabhängigkeit nachweisen. So zeigte Schade 1981, daß die intraperitoneale Gabe von 1.92 U Insulin in 3 ml eine im Vergleich höhere Portalvenenkonzentration an Insulin erzeugt als bei Verwendung des geringen Volumens von 0.6 ml.

Es besteht daher zwischen intraperitonealer und subcutaner Anwendung eine gleichgerichtete Volumenabhängigkeit der Absorptionskinetik.

Diese von uns für die Insulinabsorption gefundene Zunahme mit steigendem Injektionsvolumen ist vielfach auch für andere Pharmaka und Applikationsformen nachgewiesen worden (z.B. Himwich, 1932; Sund & Schou, 1964).

Unsere Untersuchungsergebnisse stellen dem Wunsch, die Nachfüllintervalle für Pumpensysteme durch Verwendung immer höher konzentrierter Insuline zu verlängern, die Abnahme der Biologischen Wirksamkeit bei zunehmender Konzentrierung entgegen.

Das ausschlaggebende Problem liegt jedoch in der Neigung der Insulinmoleküle zu polymerisieren und Aggregationen mit hohem Molekulargewicht zu bilden, die durch die hohe Konzentrierung dieser Insuline erheblich verstärkt wird.

Kleine Mengen mikroskopischer Granulationen finden sich bereits in den regulären, frisch hergestellten und kühl gelagerten Insulinpräparationen (z.B. U 100), vermutlich als Folge des Herstellungsprozesses. Lougheed (1980) fand zudem, daß sich die Aggregatbildung durch eine Erhöhung der Temperatur auf 37° C in Kombination mit leichtem Schütteln

wesentlich steigern läßt; beides Bedingungen, die bei Insulinpumpen - besonders bei implantierten - Bedeutung gewinnen. Auch das von uns verwendete Insulin Actrapid^{R} Novo Mc pork wurde von Lougheed bei 38^{o} C geschüttelt und zeigte bereits nach 3 - 8 Tagen für das bloße Auge sichtbare Aggregationen.

Bei der Suche nach Stoffen, die die Aggregation der Insulinmoleküle verhindern sollen, hatte Albisser (1980) mit dem Zusatz von 1,5 % autologem Serum Erfolg. Außer der Abnahme der Aggregationstendenzen stieg die Biologische Aktivität um 37 %. Diese Zunahme der Insulinwirkung bemerkte Bertram schon 1925, als er seinen Insulinlösungen 2 ml Eigenserum zusetzte.

Für die Steigerung der Biologischen Aktivität sind nicht nur Serumfaktoren und die von Summer (1969) und War (1973) beobachtete Hemmung des Insulinabbaues durch Albumin von Bedeutung, sondern auch die Vergrößerung des Injektionsvolumens.

Auch bei der von vielen Seiten gezeigten Bestrebung, U 40 und U 80 zu Gunsten von U 100 abzuschaffen, ist es wichtig, die Abnahme der Biologischen Wirksamkeit mit zunehmender Insulinkonzentration zu berücksichtigen, um Dosierfehler beim Übergang auf U 100 vermeiden zu können. Zudem sind bereits bei dieser Konzentration Nadelverstopfungen bei deren mehrmaliger Anwendung bekannt geworden (Neufeld, 1978). Vor dem weiteren Einsatz immer höher konzentrierter Insuline, vor allem in Pumpensystemen, ist daher eine genaue Analyse deren Absorptionskinetik erforderlich.

Da wir unsere Versuche zunächst nur an Normalpersonen durchgeführt haben, sind weitere Untersuchungen vor allem an Typ-I-Diabetikern wünschenswert.

Hochkonzentrierte Insuline werden jedoch auch in Zukunft ihre Daseinsberechtigung behalten; so beschrieben Paulsen (1979) und Nathan (1981) Fälle, bei denen bei einer antikörperbedingten Insulinresistenz durch Verwendung von U 500 weniger Internationale Einheiten benötigt wurden als bei Gebrauch von U 100.

VI. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit haben wir die Absorptionskinetik von subcutan injiziertem Insulin Novo Actrapid^{R} Mc in Abhängigkeit vom Injektionsvolumen bei konstant gehaltener Insulindosis an sieben Versuchspersonen untersucht. 10 I.E. Insulin wurden dabei in den Konzentrationen 200 / 80 / 40 / 10 und 5 I.E. pro ml mit entsprechendem Injektionsvolumen appliziert.

Im Versuchszeitraum von O - 180 Min.p.i. wurde an Laborparametern Seruminsulin, Glukose, C-Peptid, Laktat und Ketonkörper bestimmt.

Mit wachsendem Injektionsvolumen konnte sowohl eine erhöhte Bioverfügbarkeit, als auch eine gesteigerte maximale Serumkonzentration des exogenen Insulins nachgewiesen werden. Der Zeitpunkt, an dem diese Konzentration erreicht wird, liegt zudem früher. Die größte Zahl signifikant differenter Werte zeigte sich im Vergleich zu den Konzentrationen U 10 und U 5. Bei höherem Injektionsvolumen ergab sich ein schnellerer Abfall der C-Peptid-Spiegel. Auch die Blutzuckerwerte sanken schneller auf die zeitlich früher und tiefer gelegenen Minimalwerte ab.

Die erzielten Versuchsergebnisse führten wir vor allem auf konzentrationsabhängige, absorptionshemmende Selbstaggregationstendenzen der Insulinmoleküle zurück, sowie auf den Einfluß des erhöhten Injektionsvolumens auf den Gewebeflüssigkeitsstrom.

VII. L I T E R A T U R

Albisser, M.:
Lougheed, W.
Perlmann, K.
Bahoric, A.
Nonaggregating insulin solution for long-term glucose control in experimental an human diabetes. Diabetes 29: 241-243 (1980)

Anonymus:
Subcutaneous injections and absorption of insulin (Lancet-Editorial). Lancet, I: 1005-1006 (1980)

Arky, R.A.:
Medical Metrication: U 100 insulin. N. Engl. J. Med. 288:580-581 (1973)

Aschheim, E.:
Traffic of metabolites between blood and tissue. Microvascular Research 8: 64 - 69 (1974)

Aschoff, J.:
Hauttemperatur und Hautdurchblutung im Dienst der Temperaturregulation. Klin. Wschr. 36: 193-202 (1958)

Baeder, D.H.:
Glassman, J.M.
Hudyma, G.M.
Seifter, J.
Effect of hyaluronidase and partially depolymerized hyaluronate on threshold doses of drugs. Proc. Soc. exp. Biol. 89: 645 - 647 (1955)

Barke, A.: Der Einfluß des hydrostatischen Druckes auf die Resorption aus der Subcutis. Arch. exp. Path. Pharmk. 202: 194 - 200 (1943)

Berger, M.: Halban, P.A. Girardier, L. Seydoux, J. Offord, R.E. Renold, A.E.: Absorption kinetics of subcutaneously injected insulin. Evidence for degradation at the injection site. Diabetologia 7: 97 - 99 (1979)

Bertram, F.: Über die Aktivierung des Insulins durch Eiweißkörper Klin.Wschr. 4: 2285-2288 (1925)

Binder, C.: Absorption of injected insulin. Acta Pharmacol. Toxicol. (Suppl. 2) 27: 1 - 87 (1969)

Chandler, M.L.: Varandani, P.T. The widespread distribution of glutathione-insulin-transhydrogenase in the tissues of the rat. Biochim. Biophys. Acta 286, 136 - 145 (1972)

Challoner, D.R.: Degradation of porcine insulin and proinsulin by rat adipose tissue. Diabetes 20, No. 5: 276 - 281 (1971)

Cüppers, H.-J.: Pharmakokinetik subcutan injizierten Insulins, klinisch experimentelle Untersuchung zur Insulin-Absorption. Habilitationsschrift, Med. Fakultät der Universität Düsseldorf (1980)

Dobson, H.L.:
Robbins, L.
Johnson, P.C.
Mdalel, J.
Odem, D.D.
Cornwall, G.
Davis, M.B.
Absorption of 131-J labeled modified insulin. Metabolism 16: 723-732 (1967)

Ferrero, E.:
Casale, G.
Resorption of exogenous insulin Med. Welt 32 (12): 398 - 401 (1981)

Foster, K.J.:
Alberti, K.G.M.M.
Hinks, C.
Lloyd, B.
Postle, A.
Smythe, P.
Turnell, D.C.
Walton, R.
Blood intermediary metabolite and insulin concentration after an overnight fast: Reference range für adults and interrelation Clin. Chem. 24 (9): 1568 - 1572 (1978)

Galloway, J.A.:
Rathmacher, R.P.
Carmichael, R.H.
A comparison of acid regular and neutral regular insulin. Diabetes 22, No. 6: 471 - 479 (1973)

Goldstein, B.J.:
Livingston, J.N.
Insulin degradation by adipose tissue.
Biochem. J. 186: 351 - 360 (1980)

Grady, H.J.:
Lamar, M.Y.
Glucose determination by automated chemical analysis.
Clin. Chem. 5: 542 - 550 (1959)

Guerra, S.M.O.:
Kitabchi, A.E.
Comparison of the effectiveness of various route of insulin injection: insulin levels and glucose response in normal subjects.
Endokrinol. Metab. 42: 869 (1976)

Hammond, J.M.:
Jarett, L.
Insulin degradation by isolated fat cells and their subcellular fractions.
Diabetes 24, No. 11: 1011 - 1019 (1975)

Himwich, H.E.:
Goldmann, G.S.
Krosnick, M.Y.
Studies on subcutaneous absorption.
Amer. J. Physiol. 102: 365 - 369 (1932)

Hohorst, H.J.:
L-Lactate. Bestimmung mit Lactat-Dehydrogenase und NAD.
In: H.U. Bergmeyer (Ed.): Methoden der Enzymatischen Analyse.
1425 - 1429, Weinheim, W.-Germany Verlag Chemie (1970)

Horwitz, D.L.:
Rubenstein, A.H.
Reynolds, C.
Molnar, G.D.
Yanaihava, N.

Prolonged suppression of insulin release by insulin induced hypoglycemia, demonstration by c-peptid assay.
Horm. Metab. Res. 7: 449 - 452 (1975)

Hvidberg, E.:
Schou, J.

The effect of oestradiol-monobenzoate on connective tissue, especially on subcutaneous absorption.
Acta Pharm. Tox. 15: 207 - 216 (1959)

Irsigler, K.:
Kritz, H.
Koller, W.
Kaspar, L.
Mader, R.
Franetzky, M.

Diabeteseinstellung mit tragbaren Insulindosiergeräten.
Med. Klin. 73: 1738 - 1743 (1978)

Joiner, C.J.:

Rate of clearance of insulin labelled with J^{131} from the subcutaneous tissues in normal and diabetic subjects.
Lancet I: 964 - 967 (1959)

Kaneko, T.:
Oda, H.
Munemura, M.
Oda, K.
Yanashita, S.
Suzuk, M.
Yanaihara, N.
Hashimoto, T.
Yanaihara, C.

Radioimmunoassay of human proinsulin c-peptide using synthetic human connecting peptide.
Endocrinol. Jpn. 21: 141 - 145 (1974)

Klotz, U.: Klinische Pharmakokinetik. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart - New York, (1979)

Koivisto, V.A.: Felig, P.F. Effects of leg exercise on insulin absorption in diabetic patients. N.Eng.J.Med. 298: 79 - 83 (1978)

Koivisto, V.A.: Felig, P.F. Alteration in insulin absorption and blood glucose control associated with varying insulin injection sites in diabetic patients. Annals of Internal Medicine 92: 59 - 61 (1980)

Kølendorf, K.: Bojsen, J. Adipose tissue blood flow and insulin disappearance from subcutaneous tissue. Clin. Pharmacol.Ther. 25: 598 - 604 (1979)

Kuemmerle, H.P.: Garrett, E.P. Spitzy, K.H. Klinische Pharmakologie und Pharmakotherapie. München, S. 69 - 70 (1973)

Lougheed, W.D.: Woulfe-Flanagan, H. Clement, J.R. Albisser, A.M. Insulin aggregation in artifical delivery systems. Diabetologia 19: 1 - 9 (1980)

Moffit, P.: You and the U-100 changeover. Med.J.Aust 2: 63 - 64 (1980)

Massaglia, A.:
Rosa, U.
Rialdi, G.
Rossi, C.A.
Iodination of insulin in aqueous and organic solvents.
Biochem. J. 115: 11 - 18 (1969)

McInally, M.:
Cambell, J.A.
Robertson, D.J.
Douglas, D.M.
The clearance of radiosodium from the subcutaneous tissues of the leg.
Clin. Sci. 11: 183 (1952)

Mellanby, J.:
Williamson, D.H.
Acetoacetat.
in: H.U. Bergmeyer (Ed.): Methoden der Enzymatischen Analyse, 1776 - 1779
Weinheim-W-Germany
Verlag Chemie (1970)

Milters, K.:
Schou, J.
Self-depression in the subcutaneous absorption of morphin.
Acta Pharm. Tox. 15: 175 - 180 (1958)

Moore, E.W.:
Mitchel, L.
Chalmers, T.C.
Variability in absorption of J^{131}-insulin in normal and diabetic subjects after subcutaneous and intramuscular injection.
J.Clin. Invest. 38: 1222 - 1227 (1959)

Nathan, D.M.:
Axelrod, L.
Flier, J.S.
Carr, D.B.
U 500 insulin in the treatment of antibody-mediated insulin restistance.
Ann. Intern. Med. 94: 653 - 656 (1981)

Nelson, R.L.:
Galloway, J.A.
Wentworth, S.M.
Caras, J.A.
The bioavailability, pharmakinetics and time action of regular and modefied insulins in normal subjects.
Diabetes 25 (Suppl. 1): 325 (1975)

Neufeld, P.D.:
Needle plugging and insulin injection.
Lancet 2: 681 (1978)

Nielsen, A.V.:
Binder, C.
The absorption of soluble insulin correlated to the diabetic state.
Acta Medica Scandinavica 181: 521 - 527 (1967)

Pappenheimer, J.R.:
Passage of molecules through capillary walls.
Physiol. Rev. 33: 387 - 423 (1953)

Paulsen, E.P.:
Courtney, J.W.
Duckworth, W.C.
Insulin resistance caused by massive degradation of subcutaneous insulin.
Diabetes 28: 640 - 645 (1979)

Pingel, M.:
Volund, A.
Stability of insulin preparations.
Diabetes 21: 805 - 813 (1972)

Pocker, Y.:
Biswas, S.B.
Self association of insulin and the role of hydrophobic binding, a thermodynamic model of insulin dimerisation.
Biochemistry 20 (15): 4354 - 4361 (1981)

Ries, W.:
Schuster, L.
Gewebsclearance mit Jod^{132} bei Fettsüchtigen.
Aus: Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für innere Medizin 67. Kongreß (1961), S. 711-714
Verlag: Bergmann, München

Ries, W.:
Die Anwendung von Radioaktiven Isotopen in der Gerontologie.
Aus: Conference on Gerontologie Budapest (1965), S. 65 - 75

Ritschel, W.A.:
Angewandte Biopharmazie
Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart (1973)

Robinson, C.A.:
Boshell, B.R.
Reddy, W.J.
The binding of glucagon and insuli to plasma membranes.
Biochim. Biophys. Acta 290: 84 - 91 (1972)

Ryan, T.J.:
Structure, pattern and shape of blood vessels of the skin.
In: The physiology and pathophysiology of the skin. Vol. II: 577 - 649, Ed.: by A. Jarrett, Acad. Press, London - New York (1973)

Schade, D.S.:
Eaton, R.P.
Davis, T.
Akiya, F.
Phimney, E.
Kubica, R.
Vaughn, E.A.
Day, P.W.

The kinetics of peritoneal insulin absorption.
Metabolism 30 (2):
149 - 155 (1981)

Schou, J.:

The influence of histamine liberation on subcutaneous absorption of drugs.
Acta pharm. tox. 15:
43 - 54 (1958)

Schou, J.:

Absorption of drugs from subcutaneous connective tissue.
Pharmakol. Rev. 13:
441 - 464 (1961)

Sekijima, H.:
Fink. L.D.

Effect of hyaluronidase on toxicity of procaine and tetracaine in mice.
Proc. Soc. exp. Biol. 80:
158 - 161 (1952)

Sheldon, J.
Hill, D.M.
Brearley, B.F.
Dipple, P.E.
Bloom, A.
Gurling, K.J.
Pilkington, T.R.E.
Hayes, T.M.
Sonksen, P.
Hockaday, T.D.R.

Insulin: U 40, U 80 or U 100.
Br. Med. J. 6047, 1319
(1976)

Sonnenberg, G.E.:
Chantelau, E.
Berger, M.
Ein neues therapeutisches Prinzip in der Diabetologie - kontinuierliche Insulin-Infusion mittels portabler Pumpen.
Dtsch. med. Wschr. 106 (28): 891 - 893 (1981)

Sumner, K.:
Doisy, R.J.
Degradation of insulin by a particulate fraction from adipose tissue.
Biochem. J. 116: 825 - 831 (1970)

Sund, R.B.:
Schou, J.
The determination of absorption rates from rat muscles: an experimental approach to kinetic descriptions.
Acta pharmacol. et toxicol 21: 313 - 325 (1964)

Ward, W.F.:
Klitgaard, H.M.
Meade, R.C.
Insulin degradation by fat cell ghosts.
Horm. Metab. Res. 6: 238 - 239 (1974)

Wide, L.:
Porath, F.
Radioimmunoassay of proteins with the use of sephadex-coupled antibodies.
Biochem. Biophys. Acta 130: 257 (1966)

Williamson, D.H.:
Mellanby, J.
D-3-Hydroxybutyrate.
In: H.U. Bergmeyer (Ed.): Methoden der Enzymatischen Analyse, 1772-17
Weinheim, W.-Germany: Verlag Chemi
(1970)

Wood, A.: A new method of treating neuralgia by the direct application of opiates to the painfull points. Edinb. med. surg. J. 82: 265 - 281 (1855)

Worth, R.:
Anderson, J.
Taylor, R.
Alberti, K.G.M.M. Jet injection of insulin, comparison with conventional injection by syringe and needle. Br. Med. J. 281 (6242): 713 - 714 (1980)

VIII. DANKSAGUNG

Unser Dank gilt Herrn Privatdozenten Dr. med. H.-J. Cüppers für die Überlassung des Themas und die ständig freundliche Unterstützung bei der Ausführung der Arbeit.

Für die laborchemischen bzw. radioimmunologischen Bestimmungen danken wir Frau Bartels, Frau Broermann und Frau Schütte recht herzlich.

Nicht zuletzt möchten wir uns auch bei unseren Probanden bedanken, die sich aufgrund freundschaftlicher Verbundenheit für unsere Experimente zur Verfügung gestellt haben.

IX. LEBENSLÄUFE

a) Am 30.01.1958 wurde ich, Ralf Heyne, als Sohn des jetzigen Oberregierungsrates a.D. Walter Heyne und seiner Ehefrau Leni Heyne, geb. Bruch, in Düsseldorf geboren.

Ab Frühjahr 1964 besuchte ich die Wilhelm-Würz-Schule in 4018 Langenfeld. Im Jahre 1968 wechselte ich auf das Konrad-Adenauer-Gymnasium in Langenfeld, das ich 1977 nach bestandenem Abitur verließ.

Im Oktober 1977 nahm ich nach abgeleistetem Krankenpflegepraktikum mein Medizinstudium an der Universität Düsseldorf auf.

Am 28.08.1979 bestand ich die ärztliche Vorprüfung; am 28.08.1980 den ersten Abschnitt der ärztlichen Prüfung und am 20.08.1982 den zweiten Abschnitt der ärztlichen Prüfung in Düsseldorf.

Im Oktober 1982 habe ich mit meinem Praktischen Jahr am Evangelischen Krankenhaus Mülheim/Ruhr, Akademisches Lehrkrankenhaus der Universität Düsseldorf, begonnen.

IX. LEBENSLÄUFE

b) Am 24.07.1957 wurde ich, Wilfried Heinen, als Sohn des kaufmännischen Angestellten Friedrich Wilhelm Heinen und seiner Frau Ruth Heinen, geb. Wetzel, in Duisburg geboren.

Vom April 1964 bis zum Juli 1967 besuchte ich in Duisburg die Volksschule an der Tonstraße und anschließend das Neusprachliche Gymnasium Neudorf. Hier bestand ich im Mai 1977 das Abitur.

Im Oktober 1977 habe ich mein Medizinstudium an der Universität Düsseldorf begonnen. Dort legte ich am 28.08.1979 die ärztliche Vorprüfung, am 28.08.1980 den ersten und am 20.08.1982 den zweiten Teil der ärztlichen Prüfung ab.

Das Praktische Jahr leiste ich seit Oktober 1982 an einem akademischen Lehrkrankenhaus der Universität Düsseldorf, dem Evangelischen Krankenhaus in Mülheim an der Ruhr ab.

Druck und Verarbeitung: Dissertations Druck Darmstadt, Tel. 0 61 51 / 213 53